BEITRÄGE

ZUR

KENNTNIS OBLIGAT ANAEROBER BACTERIENARTEN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

EINER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT

VON

RICHARD GERSTNER

AUS

KARLSRUHE.

EMMENDINGEN.
BUCHDRUCKEREI A. DÖLTER.
1894.

BEITRÄGE

ZUR

KENNTNIS OBLIGAT ANAEROBER BACTERIENARTEN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

EINER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT

VON

RICHARD GERSTNER

AUS

KARLSRUHE.

EMMENDINGEN.
BUCHDRUCKEREI A. DÖLTER.
1894.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543921_0153

Seinen lieben Eltern

aus Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Einleitung.

Im Jahre 1861 beobachtete Pasteur[1] bei seinen Untersuchungen über die Buttersäuregärung das Auftreten einer Art von Bakterien, welche die Eigentümlichkeit zeigten, im Gegensatz zu allen andern bis dahin bekannten Wesen, nur in einer von Sauerstoff freien Atmosphäre zu wachsen und zu gedeihen.

Diese Erscheinung brachte Pasteur zu der Gärung in direkte Beziehung, indem er annahm, dass Gärung überhaupt nur bei Sauerstoffmangel durch Zerlegung leicht spaltbarer organischer Verbindungen eintrete, ein Prozess, welcher durch das organisierte Plasma hervorgerufen werde, wenn es gezwungen sei, bei Luftabschluss zu existieren. Er unterschied demzufolge zwei Klassen von Organismen die Aeroben und Anaeroben, je nachdem sie zu ihrem Leben das Vorhandensein von Sauerstoff erfordern oder nicht. Zu letzteren zählte er alle Gärungserreger.

Diese Ansicht fand bald ihre Gegner, besonders in Traube, Brefeld, Jeanneret, Nencki, Ganning, Hüfner, Naegeli und Prazmowski. Diese Forscher bezweifelten die Möglichkeit, dass Organismen überhaupt ohne freien Sauerstoff existieren könnten und neigten zu der Ansicht, dass sich dennoch, wenn auch nur geringe Spuren von Sauerstoff im Nährsubstrat vorfänden, die aber doch für die Lebensbedürfnisse dieser so ausserordentlich kleinen Wesen ausreichten. Auch die direkte Beziehung dieser Bakterien zur Gärung in der Ausdehnung, wie sie von Pasteur angenommen worden war, widerlegten sie mit dem Beweise, dass auch Gärung auftrete bei vollkommen freiem Sauerstoffzutritt, wobei allerdings die Buttersäuregärung eine Ausnahme mache.

[1] 1861. Pasteur. Sur les animalcules infusoires vivant sans oxygène libre et déterminant des fermentations. — Comp. Rend. Acad. des Sciences. T. 411. pag. 344.

Nencki, der sich nun eingehender mit der Frage nach dem Vorhandensein echter Anaeroben beschäftigte, konnte schliesslich mit Bestimmtheit den Nachweis liefern, dass Pasteur's Annahme vollständig richtig sei und dass es Arten gäbe, die auch da noch wüchsen, wo sich durch die empfindlichsten Reagentien auf chemischem Wege kein freier Sauerstoff mehr nachweisen liess.

Die Forschungen der nächsten Jahre auf diesem Gebiete waren alle erfolglos, da stets mit unreinen Kulturen, einem Gemisch von aeroben und anaeroben Bakterien gearbeitet wurde und weil es nicht gelingen wollte, eine einwandsfreie Methode zu finden, welche es ermöglichte, Reinkulturen in thatsächlich vollkommen von Sauerstoff freiem Raum züchten.

Erst im Jahre 1886 glückte es Liborius[2] durch neue Kulturmethoden, die Kenntniss von den anaeroben Bakterien wesentlich zu fördern und ihre thatsächliche Existenz festzustellen. Während vorher immer nur mit flüssigen Nährböden gearbeitet wurde, führte Liborius die zuerst allgemein von Koch angewandten festen, durchsichtigen Nährböden zur Kultur anaeroben Arten ein. Er erhielt damit Resultate von der grössten Bedeutung, die er in seiner Schrift „Ueber das Sauerstoffbedürfnis der Bakterien" niederlegte, und wir müssen diese Arbeit wohl als die grundlegende auf dem Gebiet der anaeroben Bakterien betrachten. Er isolierte nach seiner Methode fünf anaerobe Bakterien, nämlich den Bacillus des malignen Oedems, den Bacillus pseudo-oedematis maligni, den Bacillus clostridium foetidum, den Bacillus polypiformis und den Bacillus muscoides.

Das Verhalten der verschiedenartigen Bakterien, mit denen er experimentierte, in Bezug auf ihr Luftbedürfnis, veranlasste ihn, die Bakterien in drei grosse Gruppen einzuteilen: in die Aeroben, in die fakultativ Anaeroben und in die obligat Anaeroben, je nachdem die Bakterien zu ihrem Leben durchaus atmosphärischer Luft bedürfen, oder sowohl bei Luftzutritt als Luftabschluss gedeihen können, oder schliesslich nur bei Luftabschluss sich entwickeln.

Den obligat Anaeroben schenkte er besondere Aufmerksamkeit und schob das noch geringe Bekanntsein derselben auf die mangelhafte Ausbildung der Kulturmethoden. Dies veranlasste ihn, sich speziell damit zu beschäftigen, um diese empfindliche Lücke auszufüllen und auch für die anaeroben Bakterien in ähnlicher Weise, wie für die aeroben Arten, eine befriedigende Kulturmethode zu entdecken.

---

[2] 1886. Liborius. Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. — Zeitschrift für Hyg. Bd. I. Seite 115.

Die Anwendung der festen Nährböden brachte für ihn schon deshalb einen besonderen Vorteil mit sich, weil beim Erstarren derselben in hoher Schicht, die atmosphärische Luft nur bis zu einer gewissen Tiefe in den Nährboden eindringen kann. Der untere Teil einer in hoher Schicht im Reagensgläschen erstarrten Gelatine bleibt völlig luftfrei und ist zur Entwicklung von Anaeroben geeignet. Je weiter abwärts, desto besser entwickeln sich diese Bakterien; in den obersten Schichten, etwa bis 4 cm unter der Oberfläche, findet eine Entwicklung obligater Anaeroben überhaupt nicht statt. Später dehnt sich jedoch die Kolonie auch aufwärts aus und erreicht mitunter selbst die Oberfläche. Diese Erscheinung beruht, wie Liborius nachwies, darauf, dass die in den oberen Schichten des Nährbodens befindliche atmosphärische Luft allmählich durch die von den Bakterien selbst entwickelten Gase verdrängt wird und somit die Möglichkeit zur Entwicklung der Anaeroben auch in diesem Teile des Nährbodens gegeben wird. Ich habe, wie ich gleich an dieser Stelle bemerken will, bei meinen Arbeiten über Anaeroben, diese Erscheinung niemals beobachtet. Die Bakterienkolonien blieben stets nur in der Tiefe und ich möchte annehmen, dass nur mit aeroben Arten verunreinigte Kulturen dieses Bestreben, nach der Oberfläche zu wachsen, zeigen, wenigstens soweit es sich um Kulturen in Fleischwasserpeptongelatine handelt; im Agar findet allerdings bei fast allen anaeroben Arten ein Wachstum bis dicht unter die Oberfläche statt; allein hier kommt nach meiner Beobachtung noch ein anderes Moment hinzu, welches zu der Annahme verleiten könnte, dass die Bakterien thatsächlich bis an die Oberfläche wachsen. Bei gasbildenden Arten wird nämlich durch die aufsteigenden Gasblasen stets etwas Bakterienmaterial mit nach oben gerissen und im Stichkanal, der sich in Agar niemals wieder so vollkommen schliesst, wie in Gelatine, sondern sich mit etwas Kondensationswasser füllt, abgelagert. Diese an der Mündung des Stichkanals angeschwemmten Bakterien erwecken nun den Anschein, als sei die Kolonie bis an die Oberfläche gewachsen, was thatsächlich nicht der Fall ist. Bei nicht gasbildenden Anaeroben ist von einer solchen Erscheinung nichts zu bemerken.

Um den freien Sauerstoff abzusperren, erdachte Liborius verschiedene weitere Methoden.

Das Aufgiessen von Oel zu diesem Zwecke war von keinem grossen Erfolge gekrönt und machte insbesonders weitere Untersuchungen unmöglich.

Die Anlage von Plattenkulturen mit Glimmerscheibenverschluss erwies sich gleichfalls als unzureichend.

Weit günstiger gestalteten sich die Erfolge, als er in besonders konstruirten Apparaten anfing, die Luft durch indifferente Gase zu ersetzen. Er verwendete dazu anfangs Wasserdampf, später auf einen Vorschlag Buchner's hin Kohlensäure und Wasserstoff. Die Resultate ergaben, dass die Kohlensäure die Entwicklung dieser Bakterien entschieden hemmt, dass dagegen Wasserstoff sich ganz vorzüglich bewährt, besonders, wenn man letzteren in vollkommen reinem Zustande durch die mit dem Impfmaterial versehene verflüssigte Gelatine in kräftigem Strome durchleitet.

Ein weiteres Verdienst erwarb sich Liborius um die Kultur der Anaeroben durch seine Versuche in Bezug auf die Zusammensetzung der Nährböden. Als ausgezeichnet das Wachstum fördernd, fand er einen Zusatz von Traubenzucker zum Nährsubstrat.

Nach Liborius beschäftigte sich Gruber[3] mit den Anaeroben, indem er mit einem von ihm konstruirten Apparat den als Bacillus Amylobacter bezeichneten Erreger der Buttersäuregärung einer näheren Untersuchung unterzog. Er fand dabei, dass dieser Organismus eine Kollektivspecies sei und drei von einander unterscheidbare Arten umfasse, wovon zwei als anaerob sich erwiesen. Von diesen beiden giebt er eine kurze Beschreibung. Eingehender wieder studierte im Jahre 1888 Lüderitz die anaeroben Bakterien. Auch er schreibt die noch so geringe Kenntnis dieser Bakterienarten der Mangelhaftigkeit der Kulturmethoden zu. Unter Zuhilfenahme der von Liborius angewendeten, sowie einer in diesem Jahre von Fränkel angegebenen Kulturmethode, gelang es ihm, fünf neue anaerobe Bakterienarten aufzufinden, nämlich den Bacillus liquefaciens magnus, den Bacillus liquefaciens parvus, den Bacillus radiatus, den Bacillus solidus und den Bacillus spinosus.

Es folgen nun der Reihe nach Vorschläge und Beschreibungen von Apparaten zur Züchtung anaerober Bakterien, die aber zum grossen Teil in der Regel unhandlich und unzuverlässig sind. Es sind vor allem Fraenkel[4], Fuchs, Buchner[5] und Botkin[6], deren

---

[3] 1887. Gruber Eine Methode zur Kultur anaerober Bakterien nebst Bemerkungen zur Morphologie der Buttersäuregärung. — Centralbl. für Bakteriol. und Parasitenkunde. Bd. I. Seite 367.

[4] 1888. Fränkel. Ueber die Kultur anaerober Mikroorganismen. — Centralbl. für Bakteriol. und Parasitenkunde. Bd. III. Seite 735.

[5] 1888. Buchner. Eine neue Methode zur Kultur anaerober Mikroorganismen. Centralbl. für Bakteriol. und Parasitenkunde. Bd. IV. Seite 149.

[6] 1891. Botkin. Eine einfache Methode zur Isolierung anaerober Bakterien. Zeitschrift für Hyg. Bd. IX. Seite 383.

Methoden für gewisse Fälle ganz brauchbar sind, während die von Blücher [7], Hesse [8], Ogata [9], Trambusto [10] angegebenen Verfahren meist sehr umständlich und dabei doch nicht zuverlässig sind.

Eine Reihe weiterer wichtiger Entdeckungen auf dem Gebiete der Anaeroben verdanken wir Kitasato [11], welcher zunächst seine Aufmerksamkeit dem Rauschbrandbacillus zuwandte. Die durch diesen Organismus verursachte Krankheit war 1876 mit aller Bestimmtheit von Feser als eine vom Milzbrand verschiedene erkannt worden und die Vermutung, dass die dabei gefundenen Bakterien zu den Anaeroben gehören, fand sich durch Kitasato bestätigt. Ebenso gelang es ihm durch ein sinnreiches Verfahren die schwer isolierbaren Tetanusbacillen [12], die bereits 1885 von Nicolaier entdeckt waren, in Reinkultur zu erhalten. Beide als höchst pathogene Arten riefen nun auch das Interesse der Mediziner wach, welche von nun an den Anaeroben eine erhöhte Aufmerksamkeit schenkten.

Gleichzeitig machten Weyl und Kitasato [13] Versuche über günstige sauerstoffabsorbierende Zusätze zum Substrat und fanden die Thatsache, dass der schon von Liborius vorgeschlagene Traubenzuckerzusatz allen atmosphärischen Sauerstoff absorbiere und unschädlich mache. Im fast noch höheren Mass erwies sich ein Zusatz von ameisensaurem Natrium als günstig für das Wachstum anaerober Bakterien. Ferner beobachteten sie, dass ein mit indigoschwefelsaurem Natrium versetztes Nähragar von anaeroben Bakterien im Bereich ihres Wachstums entfärbt wird.

Eine Methode zur Kultur der Anaeroben im „hängenden Tropfen" wird von Nikiforoff [14] angegeben, die jedoch viele Mängel aufweist.

[7] 1890. Blücher. Methode zur Plattenkultur anaeroben Bakterien. — Zeitschrift für Hyg. Bd. VIII. Seite 499.

[8] 1892. Hesse. Ein neues Verfahren zur Züchtung anaerober Mikroorganismen. — Zeitschrift für Hyg. Bd. XI. Seite 621.

[9] 1892. Ogata. Einfache Bakterienkultur mit verschiedenen Gasen. — Zeitschrift für Hyg. Bd. XI. Seite 621.

[10] Trambusti. Ueber einen Apparat zur Kultur der anaeroben Bakter. in durchsichtigen Nährböden. — Zeitschrift für Hyg. Bd. XI. Seite 183.

[11] 1889. Kitasato. Rauschbrand und sein Kulturverfahren. — Zeitschrift für Hyg. Bd. VI. Seite 105.

[12] 1889. Kitasato. Ueber Tetanus. — Zeitschrift für Hyg. Bd. VII Seite 225.

[13] 1890. Kitasato und Weyl. Ueber das Wachstum des Rauschbrandes. — Zeitschrift für Hyg. Bd. VIII. Seite 51.

[14] 1890. Nikiforoff. Ein Beitrag zu den Kulturmethoden der Anaeroben. — Zeitschrift für Hyg. Bd. VIII. Seite 489.

Trotzdem nun die Methoden zur Untersuchung der anaeroben Bakterien wenigstens bis zu einem gewissen Grade ausgebildet waren, wurden doch in den letzten Jahren wenig neue Arten aufgefunden. Botkin [15] beschreibt einen Bacillus butyricus und Ogata [16] einen von ihm im Fussbodenstaub gefundenen, einen roten Farbstoff produzierenden, anaeroben Bacillus rubellus.

In letzter Zeit fand Sanfelice [17] 9 anaerobe Bakterienarten, bei deren Beschreibung er jedoch wenig Wert auf die morphologischen, sondern mehr auf die biologischen Merkmale legt. Auch stimmen sie in vielen Punkten mit schon bereits beschriebenen Anaeroben überein, so dass er die Ansicht ausspricht, dass alle anaeroben Bakterien als Varietäten auftreten von Tetanus, Rauschbrandbacillus und Bacillus des malignen Oedems, wobei er aber hauptsächlich ihr pathogenes Verhalten in Betracht zieht.

Die in den angeführten Arbeiten beschriebenen Arten von anaeroben Bakterien sind grösstenteils ziemlich mangelhaft erforscht. Die Beschreibung ist namentlich in morphologischer und entwickelungsgeschichtlicher Hinsicht sehr lückenhaft und noch mancher Ergänzung bedürftig. Ich hatte es mir anfangs zur Aufgabe gemacht, die bisher beschriebenen anaeroben Arten gerade nach dieser Richtung hin eingehender zu untersuchen; die Unmöglichkeit, das Material hierzu zu erhalten, zwangen mich jedoch hiervon abzustehen. Ich suchte deshalb selbst nach anaeroben Arten in den verschiedensten Substraten und fand dabei 7 neue Arten, welche sowohl unter sich leicht zu unterscheiden sind als auch mit keiner der bisher beschriebenen Arten übereinstimmen. Zur Untersuchung dieser Arten wurden nun fast alle beschriebenen Methoden und Apparate verwendet, doch stellte sich dabei sehr bald heraus, dass wir eine wirklich allen Anforderungen genügende Methode zur Züchtuug anaerober Arten für morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen noch nicht besitzen und dass es bei sehr luftempfindlichen Arten nicht gelingt, den ganzen Entwickelungsgang unter dem Mikroskop zu verfolgen. Indessen habe ich trotz der aussergewöhnlichen Schwierigkeiten, die sich meinem Vorhaben entgegenstellten, dennoch die morphologischen und entwickelungsgeschichtlichen Eigenschaften

---

[15] 1892. Botkin. Ueber einen Bacillus butyricus. — Zeitschrift für Hyg. Bd. XI. Seite 421.

[16] 1892. Ogata. Ueber einen im Fussbodenstaub aufgefundenen anaeroben Bac. rubellus. — Zeitschrift für Hyg. Bd. XI. Seite 183.

[17] 1893. Sanfelice. Untersuchungen über anaerobe Bakterien. — Zeitschrift für Hyg. Bd. XIV. Seite 339.

dieser Arten soweit feststellen können, dass sie zur Unterscheidung unter sich genügen, ohne dass man die biologischen Merkmale zu Hilfe zu nehmen braucht. In wieweit sie sich morphologisch und entwickelungsgeschichtlich von den früher beschriebenen Arten unterscheiden, ist deshalb nur in ganz einzelnen Fällen anzugeben möglich, weil die letzteren bei ihrer ungenügenden Beschreibung wenig Vergleichspunkte liefern; nur die pathogenen Anaeroben sind in dieser Hinsicht etwas besser bekannt.

Methode der Untersuchung.

Das Ausgangsmaterial entnahm ich gegen 100 in hiesiger Umgebung liegenden Schlamm- und Schmutzgräben und bediente mich zur Entwicklung und Züchtung der darin enthaltenen Organismen der von Fränkel angegebenen Methode.

Zu diesem Zwecke benutzte ich ca. 15 cm hohe und 3 cm breite Reagensröhrchen, die mit 10 Gramm Traubenzuckergelatine beschickt, in der üblichen Weise sterilisiert wurden. Von dem zu untersuchenden Material wurden nun zum Teil direkt kleine Mengen in das zuvor verflüssigte Substrat übertragen, zum Teil wurde eine Platinöse voll in rohen Fleischsaft gebracht, welcher zu je 50 ccm in Erlenmeyer'schen Kölbchen gefüllt war. Diese Kulturen in Fleischsaft blieben nun 4 Wochen frei an der Luft stehen und erst nach dieser Zeit wurde von dem am Boden angesammelten Bakterienschlamm eine kleine Menge zur Anlage von Rollröhrchen verwendet. Es sollte hierdurch der Versuch gemacht werden, die in nur geringer Zahl vorhandenen Keime anaerober Arten zur Vermehrung zu bringen; denn wenn durch die luftbedürftigen Arten der Sauerstoff in dem Fleischwasser verbraucht ist, beginnt auch die Entwickelung der Anaeroben. Das Eindringen frischen Sauerstoffs aus der Luft wird dadurch verhindert, dass die beweglichen luftbedürftigen Arten in die oberen Schichten des Fleischwassers steigen und sofort den von der Flüssigkeit aufgenommenen Sauerstoff verbrauchen.

Die geimpften Röhrchen wurden nun mit einem gut passenden, doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch die Durchbohrungen wurden zwei rechtwinkelig gebogene Glasröhrchen, die an ihrem horizontalen Teile dünn ausgezogen waren, so eingeführt, dass die eine davon bis in das Nährsubstrat hineinreichte, während die andere dicht unter dem Gummistopfen endete. Halsverschluss, sowie Einführungsstellen der Röhren wurden durch dichten Paraffinüberzug

vor Lufteintritt geschützt. Nun wurde mittelst reinen Zinks und verdünnter Schwefelsäure in einem Kipp'schen Apparat Wasserstoffgas entwickelt und dieses letztere durch eine Lösung von essigsaurem Blei, salpetersaurem Silber und alkalischer Pyrogallussäure hindurchgeleitet, um es von Schwefelwasserstoff, Arsenwasserstoff und etwa noch beigemengten Spuren von Sauerstoff zu befreien. Dieses so gereinigte Wassertoffgas wurde nun durch einen Gummischlauch in die Röhrchen geleitet und zwar so, dass es durch die lange Röhre seinen Weg durch das Substrat und den übrigen Teil des Röhrchens nahm und durch die kurze Röhre in's Freie trat. Wenn auf diese Weise sämmtliche im Reagensgläschen vorhandene Luft vertrieben und durch Wasserstoff ersetzt war, was bei 10 Minuten langem Durchleiten eines kräftigen Stromes der Fall ist, wurde rasch zuerst die kürzere und dann die längere Glasröhre an ihrem ausgezogenen Ende abgeschmolzen.

Die bis jetzt noch flüssige Gelatine wurde nun nach dem Verfahren von Esmarch durch fortwährendes Rollen des Röhrchens unter einem kalten Wasserstrahl an der Glaswand in gleichmässig dünner Schicht zur Erstarrung gebracht.

Nach wenigen Tagen traten schon einzelne Bakterienkolonieen auf und konnten unter dem Mikroskop beobachtet werden. Diese wurden nun sämmtlich, soweit sie bei mikroskopischer und makroskopischer Betrachtung verschieden erschienen, vorsichtig abgeimpft und Stichkulturen in hoher Traubenzuckergelatine angelegt. Diese Kulturen sind nämlich ganz besonders gut geeignet, festzustellen, welche Arten obligate Anaeroben sind und welche auch bei Luftzutritt gedeihen, weil die ersteren sich immer erst einige Centimeter unter der Oberfläche entwickeln, während die letzteren bis oben hin wachsen.

Während sich nun unter den zahlreichen abgeimpften Kolonieen mehrere Hundert als fakultativ anaeroben Arten erwiesen, liessen sich nur 7 Arten finden, die obligat anaerob wuchsen und zum Teil sogar ausserordentlich luftempfindlich waren.

Bei den auf diese Weise gewonnenen Arten konnten nun gleichzeitig Gelatine und Agarstich beobachtet und beschrieben werden. Beide geben jedoch, mit wenigen Ausnahmen, wenig für die Art charakteristische Merkmale ab, da in der Regel die Kulturen verschieden aussehen, je nachdem bei der Ueberimpfung viel oder wenig Keime übertragen werden; auch die Temperatur übte in dieser Hinsicht einen so grossen Einfluss aus, dass man im Sommer und Winter ganz abweichende Kulturbilder erhält.

Um die Keime dieser Arten in hoher Schicht zu verteilen, wurden Reagensgläschen, welche bis auf wenige Centimeter von der

Mündung mit verflüssigter Gelatine gefüllt waren, geimpft und das Impfmaterial durch Umrühren gründlich verteilt. Beim Erstarren liegen nun die Keime regellos zerstreut in der Gelatine. Nur bei wenigen Arten entwickelten sich chrakteristische Bilder.

Aeusserst schwierig und mühsam war die Herstellung von reinen Gelatineplattenkulturen. Ich benützte dazu anfangs den Apparat von Botkin, der jedoch nur in einzelnen Fällen ausreichte und ausserdem den Uebelstand zeigte, dass fast stets fremde Keime von fakultativ anaeroben Arten, sowie auch Pilze, sich einschlichen und die Kulturen verunreinigten.

Botkin's Apparat ist folgendermassen zusammengesetzt. In einem flachen Glasgefäss, wie es zu Kartoffelkulturen verwendet wird, steht ein metallenes Gestell, welches dazu bestimmt ist, die in Petri'schen Schälchen angelegten Plattenkulturen aufzunehmen. Dieses wird mit einer grossen Glasglocke bedeckt, welche aber nicht auf dem Boden des Gefässes aufsteht, sondern auf einem metallenem Dreifuss ruht. Das untere Gefäss wird soweit mit Paraffinöl gefüllt, dass die Glocke hineintaucht und ihr Inneres vollständig luftdicht abgeschlossen wird. Vermittelst einer U-förmig gebogenen Röhre wird nun eine geraume Zeit lang Wasserstoffgas unter die Glasglocke eingeleitet. Alle darin enthaltene Luft soll dadurch vertrieben und durch Wasserstoff verdrängt werden.

Nachdem ich selbst in Fränkel'schen Röhrchen keine befriedigenden Resultate erreichte, führte mich nachfolgende Methode, allerdings erst nach vielen vergeblichen Versuchen, zum Ziele.

Ich benützte kleine flache Fläschchen mit planparallelen Wänden, die zu $^1/_3$ mit Gelatine beschickt und gut sterilisiert waren. In das geimpfte flüssige Substrat leite ich in der gleichen Weise, wie bei den Rollröhrchen, Wasserstoffgas ein und legte diese Fläschchen, die vollkommen luftdicht verschlossen waren, horizontal hin und liess die Gelatine erstarren.

Auf diesem Wege hergestellte Platten liessen dann auch unter dem Mikroskop bequem das Aussehen der Kulturen beobachten und deren Wachstum verfolgen. Auch liessen sich leichter photographische Aufnahmen der Kolonieen herstellen, obgleich dieselben wegen der eigentümlichen Beleuchtungsverhältnisse ebenfalls noch viel zu wünschen übrig liessen.

Ich war umsomehr darauf bedacht, diese Plattenkulturen sicher und rein zu bekommen, da ihr Aussehen ausserordentlich charakteristisch ist und die Art am leichtesten erkennen lässt.

Um die morphologischen Verhältnisse eingehend zu untersuchen und die Entwickelungsgeschichte zu verfolgen, war die Kultur im

„hängenden Tropfen“ unentbehrlich. Auch war es wünschenswert, Agarstrichkulturen anzulegen, um substratfreies Bakterienmaterial zur mikroskopischen Untersuchung und zur Färbung von Deckglaspräparaten zu erhalten.

Zu diesem Zwecke wurden die von Buchner und von Fuchs angegebenen Methoden in Anwendung gebracht.

Zur Ausführung der ersteren verwendete ich ein Reagensgläschen, wie es bei den Rollröhrchen benutzt wird, und brachte 1 Gramm trockene Pyrogallussäure hinein. Auf ein niedriges Gestell brachte ich ein kleines Reagensgläschen, welches eine Agarstrichkultur enthielt und dessen Wattestopfen gelockert war. Jetzt goss ich zur Pyrogallussäure 10 ccm Kalilauge und verschloss das Gläschen rasch mit einem gut schliessenden Gummistopfen und Paraffin luftdicht. Den ganzen Apparat setzte ich nun in den Brutkasten. Bei dieser Methode soll die alkalische Pyrogallussäure allen im Apparat befindlichen Sauerstoff absorbieren.

Nach der Methode von Fuchs wird ein Gläschen mit schräg erstarrten Agar im Strich geimpft, umgekehrt und nun ein kräftiger Wasserstoffstrom eingeleitet. Sobald die Luft verdrängt ist, wird rasch ein Gummistopfen eingeführt und ein luftdichter Abschluss durch Paraffin hergestellt.

Beide Methoden lieferten jedoch bei den sehr luftempfindlichen Arten keine genügenden Resultate; sehr oft bleibt jedes Wachstum aus, da es fast unmöglich ist, auf die angegebene Weise jede Spur Sauerstoff aus dem Röhrchen zu entfernen.

Ich war dadurch gezwungen, zur Untersuchung dieser Arten aus Agarkulturen durch Zerschneiden des Reagenscylinders vorsichtig reines Material zu entnehmen, was jedoch den Uebelstand mit sich brachte, dass dabei keine schönen Geisselpräparate zu erzielen waren und auch die Bildung und Keimung der Sporen nicht lückenlos verfolgt werden konnte.

Die Methode von Nikiforoff zur Kultur im „hängenden Tropfen“ gab ungünstige Resultate, da ebenfalls eine vollständige Entfernung des Sauerstoffs nicht zu erreichen ist. Er schlägt Objektträger vor, die in ihrer Mitte mit einer Vertiefung versehen sind. Ist der Tropfen auf dem Deckglas geimpft, so werden an zwei entgegengesetzten Stellen am Deckglasrande Kalilauge und Pyrogallussäure zugesetzt und durch Drehung des Deckgläschens vermischt. Durch die entstehende alkalische Pyrogallussäurelösung soll der Sauerstoff in dem Hohlraum zwischen Objektträger und Deckglas absorbiert werden.

In Fällen, wo es nicht möglich war, reines substratfreies Material zur Beobachtung der morphologischen Verhältnisse zu bekommen, habe ich Bouillonkulturen angelegt, die nach mehrmaligen Versuchen zu guten Resultaten führten. Kleine Reagensgläschen füllte ich zu $^1/_3$ mit reiner Bouillon, impfte nach dem Sterilisieren die Keime ein und verdrängte die Luft in derselben Weise, wie bei den Rollröhrchen, mit Wasserstoffgas.

Dieser Methode verdanke ich hauptsächlich auch schöne Sporenpräparate, auch war es mir möglich, in einem Fall mit voller Sicherheit, die Entwicklung des Stäbchens aus der Spore beobachten und verfolgen zu können. Ich verfuhr dabei in der Weise, dass ich von alten Bouillonkulturen, in welchen nur noch Sporen in lebensfähigem Zustande vorhanden waren, das zu Boden gesunkene Sporenmaterial in ganz frische Bouillon überimpfte, wieder einen mit Wasserstoff erfüllten Raum herstellte und nach wenigen Stunden die Keime untersuchte.

Mit Zuhilfenahme dieser Methoden gelang es mir, die charakteristischen Eigenschaften der 7 neuen anaeroben Arten, deren Beschreibung ich nun folgen lasse, festzustellen.

Beschreibung der neuen Arten.

1. Bacillus cincinnatus.

Die Stäbchen erreichen einen Durchmesser von 1,0 μ (gefärbt und in Kanadabalsam 0,66 μ) und eine Länge von 3—6 μ. Die Enden sind abgerundet; oft erscheinen die Stäbchen schwach gebogen, in jungen Kulturen zu langen Fäden verbunden, die vielfach gewunden sind. In diesem Zustande kann man auch nach der Färbung mit Gentianaviolett nicht überall die Querwände erkennen, so dass die Stäbchen oft die zehnfache Länge zu haben scheinen. In ältern Kulturen, namentlich kurz vor der übrigens sehr ungleichmässig eintretenden Sporenbildung, ist die Gliederung der Fäden überall deutlich und auch meist schon in ungefärbtem Zustande erkennbar. Die Fäden sind dann bedeutend kürzer und bestehen durchschnittlich aus 6—10 Gliedern, auch einzelne Zellen sind häufig. Die Sporen entwickeln sich nur in Zellen, die sich von den Fäden losgetrennt haben. Im Inhalt der Zellen ist eine Differenzierung erst kurz vor der Sporenbildung erkennbar, wo das Plasma feinkörnig wird.

Die Zellen sind beweglich, jedoch wie bei allen Anaeroben in sehr wechselndem Grade, am lebhaftesten sofort, nachdem sie aus der Kultur entnommen sind. Wahrscheinlich wirkt der Zutritt der atmosphärischen Luft schädigend auf die Bakterien ein, und die Beweglichkeit lässt deshalb rasch nach. Wenn man nach der Löffler'schen Methode Geisselfärbungen herstellt, so bemerkt man an den meisten Exemplaren nur wenige, sehr lange Geisseln, welche stark wellenförmig gekrümmt sind und von der Basis nach der Spitze zu beträchtlich an Stärke abnehmen.

Dies ist nur so zu erklären, dass es sich hier nicht um einfache Geisseln handelt, sondern um zahlreiche, zu einem Strange zusammengeklebte Geisseln, da die Geisseln aller andern Bakterienarten nicht nur bedeutend schwächer, sondern auch von der Basis

bis zur Spitze ziemlich gleich dick sind. In der That findet man auch einzelne Exemplare, bei denen sich die Geisseln nicht zu solchen Strängen verflochten haben und man bemerkt dann, dass sie regellos in ziemlicher Anzahl über den ganzen Körper zerstreut sind. An einem Individuum konnten 18 getrennte Geisseln beobachtet werden; jedoch schienen einige davon immer noch nicht einfach, sondern aus mehreren zusammengesetzt zu sein. Es liegt hier zweifellos dieselbe Erscheinung vor, wie sie Löffler beim Rauschbrandbacilius gefunden und als Zopfbildung beschrieben hat. (Löffler, Bakt. Centralblatt, Bd. VII. 1880. Nr. 20. „Weitere Untersuchung über die Beizung und Färbung von Geisseln bei den Bakterien.“)

Ueberhaupt scheint diese Zopfbildung bei anaeroben Bakterien ziemlich verbreitet zu sein.

Die Spore entsteht vollständig terminal. Ursprünglich tritt an dem einen Pole ein kleiner stark lichtbrechender Punkt auf, der sich rasch vergrössert und bald bis an die Zellmembran reicht. In diesem Stadium füllt die junge Spore das Ende der Zelle vollkommen aus, ohne jedoch das Stäbchen aufzutreiben. Es findet dann aber noch ein geringes Wachstum statt, wodurch die Spore einen grössern Dickendurchmesser erhält, als die vegetativen Zellen. Da jedoch die Membran der Mutterzelle gerade an den Polen der Ausdehnung durch die wachsende Spore einen grösseren Widerstand entgegenzusetzen scheint, rückt die Spore bei weiterer Volumenzunahme etwas nach der Mitte zu, so dass über derselben ein kleines Spitzchen der Mutterzelle sichtbar wird. Die Anschwellung des Stäbchens ist jedoch ziemlich gering, obwohl bei allen Zellen mit reifen Sporen deutlich bemerkbar. Die Spore selbst ist elipsoidisch, ihre Länge beträgt 2 μ, ihre Breite 1,5 μ. Bei der Keimung bricht das junge Stäbchen an den Polen und zwar meist an beiden zugleich durch, so dass die Sporenmembran schliesslich wie ein Ring auf dem Stäbchen aufsitzt. Die Plattenkultur zeigt erst nach einigen Tagen Wachstum. Es treten im Rollröhrchen kleine weisse Scheiben mit dichterem Centrum auf, welche unter allmähligem Wachstum nach wenigen Tagen die Gelatine zur Verflüssigung bringen. Bei schwacher Vergrösserung scheint die Kolonie oberflächlich betrachtet eine gewisse Aehnlichkeit mit Milzbrandkolonieen zu haben, indess sind sie viel zarter und doch auch weniger gewellt, als jene. So lange die Kolonieen in der Gelatine eingeschlossen sind, erscheinen sie als unregelmässige, dunkle, ziemlich strukturlose Masse, sowie sie aber an die Oberfläche der Gelatine gelangen, beginnt jene eigentümliche, wellenförmige Hin- und Herbiegung der Bakterienzüge, welche der dunklen Kolonie ganz das Aussehen eines Lockenkopfes geben. Es

kommt jedoch auch niemals zu einer scharfen Abgrenzung der einzelnen Bakterienzüge und diese selbst werden auch niemals in so feine Fäden aufgelöst, wie beim Milzbrand. Der Rand der ganzen Kolonie ist verhältnismässig glatt, wenn auch lappig und durch vielfache Einkerbungen unterbrochen. Niemals aber ziehen sich aus demselben haarförmige Ausläufer in die Gelatine hinein. Bei weiterem Wachstum der Kolonie verschwindet diese eigentümliche Zeichnung mit fortschreitender Verflüssigung der Gelatine.

Im Agarstich entwickelt sich die Kolonie etwa 1—2 cm unter der Oberfläche nach der Tiefe zu als wenig charakteristischer durchscheinender oft ziemlich dicker Faden, der an seinem Rande vielfach in das Agar hineinragende Lappen und Ausbuchtungen trägt. In der Kälte bleibt der Stich lange Zeit erhalten, im Brutschrank dagegen tritt durch die reichliche Gasentwickelung leicht eine Verschiebung und Zerreissung des Agars durch Gasblasen ein.

In hoher Traubenzuckergelatine entwickeln sich im Stich eine Anzahl feiner weisser Körnchen, welche aber sehr rasch unter gleichzeitiger intensiver Verflüssigung der Gelatine zu wolkenartig geballten, weissen Massen heranwachsen und sich dann scharf gegen die unverflüssigte Gelatine abheben.

2. Bacillus diffrangens.

Die einzelnen Stäbchen sind durchschnittlich etwa drei mal so lang als dick; doch kommen auch Zellen vor, welche bis 8 mal so lang als dick sind. Die Enden sind halbkugelig abgerundet und namentlich an gefärbten Exemplaren schwach angeschwollen. Die Dicke beträgt durchschnittlich 0,8 μ gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen 0,33 μ. Oft hängen zwei Stäbchen zusammen, seltener werden längere Ketten gebildet. Entnimmt man das Material zu Deckglaspräparaten etwas ältern Kulturen, so zeigen sich bei gewöhnlicher Färbung mit wässerigen Anilinfarben eigentümliche Degenerationserscheinungen. Man findet dann neben sporentragenden Zellen, sehr langgestreckte, oft gebogene Fäden von ganz ungleichmässiger Dicke, welche, so weit sich dies entscheiden liess, aus einer einzigen Zelle bestehen. Auch Bildungen, welche an die Polkörner des Typhusbacillus erinnern, finden sich, namentlich bei kürzern Individuen.

Die Begeisselung ist bei diesem Organismus nicht leicht festzustellen, da es unmöglich war, schöne Geisselpräparate zu erhalten; jedoch liess sich wenigstens so viel erkennen, dass die Geisseln über den ganzen Zellleib zerstreut auftreten und mehrfach länger als die Zellen

selbst sind. Die Zahl derselben mag zwischen 10 und 20 liegen und konnte nicht genau ermittelt werden. Bei der ausserordentlichen Empfindlichkeit dieser Art gegen jede Spur von Sauerstoff wollten die Kulturen nach der Methode von Fuchs nicht gelingen und es mussten deshalb zur Untersuchung der Begeisselung aus dem Innern von Agarstichkulturen Proben entnommen werden, was zur Folge hatte, dass die Geisselpräparate sehr reich an Unreinigkeiten waren. Die schwache Beweglichkeit dieser Art ist wohl weniger auf ein geringes Bewegungsvermögen selbst zurückzuführen, als vielmehr darauf, dass schon minimale Mengen von Luft hemmend auf die Bewegung einwirken.

Die Sporenbildung erfolgt sehr unregelmässig und verhältnismässig nur ein geringer Bruchteil der vegetativen Zellen entwickelt überhaupt Sporen. Die Spore entsteht immer an dem einen Pol des Stäbchens, ursprünglich als kleiner, heller, stark lichtbrechender Körper, welcher allmählich heranwächst und zu der Zeit, zu welcher er die Wandung der Mutterzelle erreicht, nicht vollständig rund, sondern mehr länglich ist. Auch ist zwischen der Spore und dem Zellenende noch ein kleiner Raum frei. Bei weiterem Wachstum wird die Membran der Mutterzelle durch die Spore mächtig aufgetrieben, die letztere rundet sich ab und auch der kleine Zwischenraum am Ende der Mutterzelle verschwindet, so dass die Spore schliesslich das Zellende vollkommen ausfüllt. Der andere Teil der Zelle hat inzwischen oft eine eigentümliche Veränderung durchgemacht. Meist wächst nämlich die Zelle nicht unbeträchtlich in die Länge und biegt sich dabei peitschenförmig hin und her, zuweilen allerdings ist das Wachstum ein unbedeutendes und dann erscheint das sporentragende Stäbchen in der sogenannten Trommelschlägerform. Die Spore selbst ist im ausgebildeten Zustande völlig rund und hat einen Durchmesser von 1,35 μ.

Im Rollröhrchen entwickeln sich erst nach mehreren Tagen kleine, weisse Pünktchen, welche bei ihrem Heranwachsen die Gelatine langsam verflüssigen.

Unter dem Mikroskop ist das Aussehen dieser Kolonieen wenig charakteristisch. Sie bilden rundliche, nahezu undurchsichtige kleine Scheiben mit völlig glatten und scharfem Rande. Auch in ihrem Innern lassen sich irgend welche Strukturverhältnisse kaum erkennen. Auch bei der beginnenden Verflüssigung bleibt zunächst das Aussehen der Kolonie unverändert. Merkwürdigerweise wurden bei diesem Organismus nur Kolonieen erhalten, welche im Innern der Gelatine lagen, oberflächlich gelegene wurden überhaupt nicht beobachtet. Es ist dies wahrscheinlich so zu erklären, dass die ge-

ringsten Mengen des noch im Rollröhrchen vorhandenen Sauerstoffs hinreichen, die Entwickelung einer Oberflächenkolonie zu verhindern. Von allen untersuchten Anaeroben hat sich dieser Organismus nämlich am empfindlichsten gegen Sauerstoff gezeigt.

Sein Wachstum ist bei Zimmertemperatur ein bedeutend kräftigeres und rascheres, als im Brutschrank.

In Agar entsteht ca. 1 cm unter der Oberfläche längs des Impfstiches ein reich verästelter, vielfach gelappter Streifen, der im Verlauf seines Wachstums in der Tiefe merklich an Stärke zunimmt. Dabei tritt lebhafte Gasentwicklung auf, die bedingt, dass die ganze Agarschicht zerklüftet und zerborsten wird.

In hoher Traubenzuckergelatine entwickelt sich im Stich eine Reihe feiner weisser Pünktchen, die bald unter rascher Verflüssigung der Gelatine zu wolkenartig getrübten rundlichen Massen heranwachsen und durch feine, in die Gelatine hineinwachsende, kaum sichtbare, haarförmige Ausläufer unscharf gegen die Gelatine abgegrenzt erscheinen.

3. Bacillus granulosus.

Die Form der Stäbchen ist nicht charakteristisch. Sie erreichen einen Durchmesser von 1,2 μ gefärbt und im Kanadabalsam eingeschlossen 0,8 μ und zeigen halbkugelig abgerundete, mitunter etwas abgestutzte Enden. Die Länge der einzelnen Zellen beträgt das 3-fache bis 10-fache der Breite. Sie sind meist einzeln, seltener zu zwei oder mehr an einander hängend.

Auch bei dieser Art wollte es nicht gelingen, schöne Geisselpräparate zu bekommen. Die Eigenbewegung der einzelnen Zellen war zwar eine geringe, aber doch deutlich wahrnehmbare. Da die Sauerstoffempfindlichkeit dieser Art eine fast ebenso grosse ist, als bei Bacillus diffrangens, so liessen sich auch die Geisselpräparate nur in derselben Weise erhalten. Die Geisseln stehen über den ganzen Körper zerstreut, sind mässig lang und nicht sehr zahlreich. Vielleicht liesse sich durch eine Aenderung der Beize in Bezug auf Alkalität eine intensivere Färbung der Geisseln erreichen, doch genügte die Löffler'sche Beize für den vorliegenden Zweck, da es sich ja nur darum handelte, über die Zahl und Anordnungen der Geisseln Gewissheit zu erhalten.

Vor der Sporenbildung sind die einzelnen Stäbchen durchschnittlich vier mal so lang als breit; wenn sie zur Sporenbildung schreiten, bleiben die Zellen meist kürzer, kaum doppelt so lang, als breit, und zugleich mit dem Wachstum der Spore schwillt das

Stäbchen bald mehr, bald weniger an. Sind die Zellen kurz, wie dies meist der Fall ist, so erstreckt sich die Anschwellung über das ganze Stäbchen ziemlich gleichmässig und die Spore scheint auch beinahe in der Mitte zu liegen. Sind jedoch die Stäbchen länger, was zwar selten vorkommt, so sieht man, dass die Sporen dem einen Pole bedeutend näher liegen und dass auch nur an dieser Stelle, also köpfchenförmig, eine Anschwellung erfolgt. Die Sporen sind rund und haben einen Durchmesser von 0,6 μ.

Im Rollröhrchen treten erst nach mehreren Tagen sehr kleine weisse Pünktchen auf, welche zunächst nicht die Tendenz zeigen, die Gelatine zu verflüssigen. Erst nach längerer Zeit macht sich eine Verflüssigung bemerkbar, die dann aber allerdings rasch vor sich geht. Auch bei diesem Organismus wurden keine an der Oberfläche liegenden Kolonieen bemerkt. Die im Innern der Gelatine liegenden Kolonieen zeigten sich als sehr kleine, gelbliche Scheiben von rundlicher, aber niemals ganz kreisrunder Gestalt. Sie sind durchsichtig, aber deutlich granuliert, und zeigen einen glatten, scharfen, nicht gekörnten Rand. Sehr häufig macht sich an der Kolonie eine schmale, hellere und weniger gekörnte Randzone bemerkbar.

In Agar stellen die Kolonieen in hoher Schicht, ca. 1 cm unter der Oberfläche beginnend, einen schmalen Streifen dar, der sich längs des Impfstiches bis auf den Boden des Gläschens hinzieht und stark gelappt ist. Die Gasentwicklung ist dabei eine bedeutend geringere, als bei Bacillus diffrangens. In hoher Traubenzuckergelatine entwickeln sich im Stich zahlreiche feine, weisse Körnchen, welche anfangs, ohne mit einander zu verschmelzen, heranwachsen und erst später bei der allmählich beginnenden Verflüssigung der Gelatine in einander verfliessen. Die Verflüssigung beginnt zuerst an der Spitze der Kolonie und schreitet von Oben nach Unten fort.

Eine geringe Menge des Impfmaterials in verflüssigte hohe Traubenzuckergelatine verteilt, wächst dort zu kleinen, weissen punktförmigen Kolonieen heran, welche nach einigen Tagen die Gelatine zu verflüssigen beginnen und dann grosse, nicht ganz scharf gegen die Gelatine abgegrenzte weisslich trübe Kugeln bilden, an deren Boden gewöhnlich eine dicke, weisse Bakterienmasse lagert.

4. Bacillus reniformis.

Die Stäbchen sind ziemlich lang und schlank, 1,0 μ dick (gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen 0,5 μ) und durchschnittlich etwa 8 mal so lang. Die Enden sind abgerundet. Auch diese Art

kommt meist in einzelnen nicht zu Fäden verbundenen Individuen in der Kultur vor.

Beweglichkeit und Geisseln wurden bei diesem Organismus nicht beobachtet.

Die Sporen bilden sich bei dieser Art ausgesprochen polar, ohne dass jedoch eine eigentliche Köpfchenbildung oder Trommelschlägerform entsteht. Gewöhnlich schwellen die Stäbchen an den sporentragenden Enden an, doch ist dies durchaus nicht bei allen Individuen in gleichem Masse der Fall.

Man trifft mitunter selbst Zellen mit völlig ausgebildeten Sporen, welche überhaupt keine Anschwellung zeigen und ebenso alle Uebergänge bis zu solchen, die bis doppelt so dick geworden sind, als im gewöhnlichen vegetativen Zustande. Die Anschwellung ist auch niemals eine plötzliche, halbkugelige Ausbuchtung der Membran, sondern eine allmähliche kegelförmige Erweiterung des Zelllumens von dem sporenfreien nach dem sporentragenden Ende zu. Ueber die Spore ragt die Mutterzelle gewöhnlich noch ein kurzes Stückchen hinaus, selten füllt die Spore das Ende der Zelle ganz aus. Die Zellen, welche sich zur Sporenbildung anschicken, haben ungefähr die gleiche Länge, wie bei der gewöhnlichen vegetativen Teilung. Die Sporen sind 0,9 μ lang und 0,7 μ breit.

Nach 3—4 Tagen erscheinen auf der Platte weissliche, durchsichtige Pünktchen, welche bei weiterem Wachstum einen bläulichen Schein annehmen und eine schwache Einbuchtung zeigen. Unter dem Mikroskop beobachtet man eine deutlich ausgesprochene nierenförmige Gestalt, welche diesen Kolonieen ganz allgemein zuzukommen scheint. In späteren Entwickelungsstadien der Kolonie ist jedoch die charakteristische Einbuchtung verschwunden. Diese eigentümliche Gestalt der Kolonieen kommt in der Weise zu Stande, dass die ursprünglich im Innern der Gelatine entstandenen Kolonieen mit dem einen Pol an die Oberfläche gelangen und sich nach dieser Richtung hin kräftig ausbreiten. Je weiter die Kolonie an die Oberfläche gelangt, desto mehr rundet sie sich ab, bis sie schliesslich nur eine Einbuchtung an der Stelle zeigt, welche der zuerst an die Oberfläche gelangten entgegengesetzt ist.

Später, wenn auch dieser Teil heraufwächst, wird die ganze Kolonie mehr rund und verliert ihr charakteristisches Gepräge. Der Rand der Kolonie ist glatt und völlig scharf. Der Inhalt durchsichtig, dabei aber sehr deutlich grob gekörnt.

In Agar entsteht ca. 1 cm unter der Oberfläche eine starke, wolkige Trübung in der Umgebung des Stichkanales und zahllose, äusserst feine Fortsätze laufen in das Substrat hinein.

In hoher Traubenzuckergelatine entwickelt sich im Stichkanal eine Reihe weisser, kleiner Pünktchen, welche nur wenig heranwachsen, aber sich dadurch bald eigentümlich gestalten, dass von ihnen ausgehend, lange haarförmige unregelmässig gebogene Fortsätze in die Gelatine hineinwachsen. Die Zahl dieser Fortsätze ist jedoch nicht so gross und ihre Länge keine so regelmässige wie etwa bei den unter dem Namen Wurzelbacillen bekannten Bakterienarten. Das Bild der Kolonie bleibt lange Zeit erhalten, da eine Verflüssigung der Gelatine überhaupt nicht eintritt. Im Gegenteil scheint der Bacillus reniformis eine eigentümliche, austrocknende Wirkung auf die Gelatine auszuüben, da dieselbe bei der später stark auftretenden Gasentwicklung spröde und brüchig wird.

Bringt man eine sehr geringe Menge des Impfmaterials in ein Gläschen mit verflüssigter hoher Traubenzuckergelatine und lässt es erstarren, so entwickeln sich nach einigen Tagen kleine weisse Pünktchen, welche bald nach allen Richtuugen hin sehr zierliche Ausläufer entsenden, die in eigentümlicher Weise fein verästelt sind. Diese kleinen dendritischen Kolonieen sind so eigenartig, dass schon daran die Art mit ziemlicher Sicherheit zu erkennen ist, und nur der Bacillus funicularis zeigt ähnliche, wenn auch viel kleinere Kolonieen.

5. Bacillus funicularis.

Lange, schlanke Stäbchen von 1,1μ Durchmesser (gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen 0,65 μ). Meist etwa 10 mal so lang, als breit, doch kommen vereinzelt auch sehr viel kürzere Zellen vor. Die Enden sind sehr flach, abgerundet, fast abgestutzt. Kleine Ketten von 2—4 Gliedern kommen häufig vor, meist jedoch sind die Stäbchen aus den Kulturen einzeln.

Die Stäbchen sind sehr langsam wackelnd beweglich. Die Zahl ihrer Geisseln ist meist gering und beträgt selten mehr als 8, sie stehen über den ganzen Körper regellos zerstreut und sind gewöhnlich nicht regelmässig wellig gebogen, sondern verschiedenartig gekrümmt, ähnlich wie beispielsweise bei Bacillus subtilis.

Die Sporen entstehen in den Stäbchen vollständig polar. Anfangs tritt nahe an dem einen Ende der Zelle ein kleiner heller Fleck auf, welcher mehr länglich ist und unter allmählicher Volumenzunahme schliesslich das ganze Ende des Stäbchens ausfüllt. Noch in diesem Stadium ist die junge Spore länger, als breit, von nun an beginnt sie jedoch sich abzurunden, indem sie nur noch in die Dicke wächst und dabei gleichzeitig die Membran der Mutter-

zelle köpfchenförmig auftreibt. Vollkommen reife Sporen sind kugelrund, 0,9 μ im Durchmesser breit und füllen das Ende der Zelle so aus, wie es etwa bei den Tetanussporen der Fall ist. Das Plasma der Mutterzelle wird, wie es scheint, gänzlich zum Aufbau der Spore verwendet, denn noch ehe die letztere sich mit der charakteristischen, dicken Membran umgeben hat, ist eine Färbung in den übrigen Teilen der Mutterzelle nicht mehr zu erreichen.

Im Rollröhrchen erscheinen nach einigen Tagen eigentümliche, dem Astwerk eines sparrigen Baumes gleichende Kolonien, welche bis über einen Centimeter an Ausdehnung erreichen.

Obwohl nun diese Aeste von einem Zentrum ausgehen, zeigt sich doch in keiner Beziehung etwa an dieser Stelle eine besondere Anschwellung. Da eine Verflüssigung der Gelatine erst ziemlich spät eintritt, so bleibt das Bild lange Zeit vollständig erhalten. Bei schwacher Vergrösserung erscheinen diese Kolonieen so charakteristisch, dass eine Verwechslung mit irgend einem andern Bakterium völlig ausgeschlossen ist:

Man beobachtet nämlich eine Anzahl deutlich von einander getrennte, eigentümlich gebildete Stränge, welche sich schwer beschreiben lassen. Dieselben bestehen aus rundlichen, nach einer Richtung hin oft dicht an einander gereihten Einzelkolonieen, so dass stellenweise der Strang an die vielfach gewundenen und eingeschnürten Partieen in dem Darm von Säugetieren erinnert. Dann plötzlich setzen diese Kolonieen wieder einmal aus und ein kurzer dünner Faden führt zu der nächsten Gruppe solcher Kolonieen hin. Ursprünglich treten diese Stränge nämlich als dünne Bakterienfäden auf, welche vielfach dicht nebeneinanderliegende Schlingen bilden und aus diesen Schlingen bilden sich dann die rundlichen Anschwellungen der Stränge.

In Agar bildet sich ein wenig charakteristisches Wachstum. Längs des Impfstiches zieht sich ca. 1 cm unter der Oberfläche beginnend bis zum Boden ein schmaler, schwach gelappter Streifen hin. In hoher Traubenzuckergelatine entwickelt sich im Stichkanal anfangs ein weisser Faden, von dem aus sehr bald sehr zahlreiche nach allen Richtungen hin, aber meist etwas aufwärts verlaufende verästelte Fasern in die Gelatine hineinwachsen. Die Spitze der Kolonie erinnert in ihrem Aussehen etwas an den Wipfel einer Tanne. Eine Verflüssigung der Gelatine tritt erst nach einiger Zeit ein, wenn sich die Kolonie schon vollkommen deutlich entwickelt hat.

Verteilt man in flüssige Gelatine etwas Impfmaterial, so entwickeln sich nach einigen Tagen eigentümliche, dendritische Kolonieen,

ähnlich wie bei Bacillus reniformis, aber merkwürdigerweise, obgleich im Stich viel kräftiger wachsend, erreichen sie nicht dieselbe Grösse, als bei jener Art. Kommt eine dieser Kolonieen an die Glaswand des Reagensgläschens, so bildet sich auf dieser eine rundliche, ziemliche grosse, hauchartige Auflagerung, deren Ränder ausserordentlich fein verästelte, haarförmige Ausläufer tragen.

6. Bacillus fibrosus.

Ziemlich dicke Stäbchen, einzeln oder zu kleinen, mehrgliederigen Fäden vereinigt. Der Durchmesser beträgt 1,5 μ. Die Enden sind verschiedenartig gestaltet, in vielen Fällen zugespitzt, namentlich bei den Endzellen kleiner Fäden; bei einzelnen Zellen dagegen in der Regel fast gerade abgestutzt.

Die Geisseln stehen über den ganzen Körper zerstreut, sind lang, wellig gekrümmt, und in der Regel zopfig mit einander verfilzt, so dass sich ihre Zahl nicht gut feststellen lässt. Sie mag jedoch in der Regel zwischen 10 und 20 liegen.

Die Sporen sind oval, 0,8 μ lang, 0,7 μ breit. Sie entstehen nicht völlig polar, sondern etwas mehr nach der Mitte zu, so dass ein nicht unerheblicher Teil der Mutterzelle über die Spore hinausragt. Auch hier entsteht die Spore zunächst als kleines, stark lichtbrechendes Pünktchen, welches allmählich bis an die Wände der Mutterzelle heranwächst, ohne dieselbe jedoch selbst, bei eingetretener Reife, aufzutreiben. Die Keimung der Spore konnte bei dieser Art nicht beobachtet werden.

In den Rollröhrchen entwickelt sich ziemlich rasch eine kleine, feinfaserige Kolonie, welche etwas Aehnlichkeit mit der jungen Kolonie eines Schimmelpilzes zeigt. Das Bild der Kolonie bleibt jedoch nicht lange bestehen, da die Verflüssigung sehr rasch vor sich geht und dabei das charakteristische Aussehen vollständig verschwindet. Unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung erinnert die Kolonie zwar auch noch an die Anfänge einer Schimmelkolonie, ist aber bei genauer Betrachtung sofort leicht zu unterscheiden. Von einem dichteren Zentrum geht ein Fadengewirr nach allen Richtungen hin aus, häufig von etwas dickeren Strängen, durchzogen. Die Fäden verteilen sich schliesslich so fein, dass man ihre Endigungen mit der schwachen Vergrösserung, die man im Allgemeinen nur bei der Untersuchung der Kolonieen verwendet, nicht mehr verfolgen kann. Auch hier verliert das Bild der Kolonie durch die rasch eintretende Verflüssigung sehr bald sein charakteristisches Aussehen.

Im Agarstich entwickelt sich die Kolonie etwa 1 cm unter der Oberfläche längs des Stichkanals nach der Tiefe zu, als vielfach gewundener Faden, der an seinem Rande mehrfach gelappt ist.

In hohe Traubenzuckergelatine gestochen, treten nach kurzer Zeit im untern Teile des Gläschens kleine, weisse Pünktchen auf, die sich unter gleichzeitiger energischer Verflüssigung rasch vergrössern und zu wolkenartig geballten Massen zusammenfliessen. Die Kultur ähnelt am meisten derjenigen des malignen Oedems, nur ist der Rand der verflüssigten Gelatine gegen die feste weniger scharf abgegrenzt.

7. Bacillus penicillatus.

Die einzelnen Zellen sind kurze, ziemlich gedrungene Stäbchen 1,3 μ dick (gefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen 0,8 μ dick), mit stumpf abgerundeten Enden, welche namentlich in gefärbten Präparaten ganz leicht vorgezogen erscheinen. Auch Fäden von 2 oder mehr Gliedern kommen in den Kulturen häufig vor.

Die Beweglichkeit ist eine ausserordentlich starke und die Zahl der Geisseln eine sehr hohe. An einzelnen Individuen wurden bis 25 gezählt. Sie sind 3—4 mal so lang, als der Körper des Bacillus und sehr regelmässig wellig gebogen, stehen über den ganzen Körper regellos zerstreut, und zeigen wie diejenigen der meisten Anaeroben die Tendenz, zopfartig mit einander zu verfilzen, indessen kommen eigentliche Geisselzöpfe nicht vor.

Die Sporen sind oval, durchschnittlich 1,2 μ lang und 0,9 μ breit. Sie entstehen nahezu terminal, doch bleibt ein kleiner Raum an der Spitze der Zelle frei. Die Anlage der Spore erfolgt in derselben Weise, wie bei den übrigen beschriebenen Arten. Es bildet sich erst ein kleiner hellglänzender Fleck, welcher allmählich an Grösse zunimmt und schliesslich bis an die Membran der Mutterzelle reicht. Eine Auftreibung der Mutterzelle findet bei der Sporenbildung nicht statt.

Nach kurzer Zeit entwickeln sich im Rollröhrchen rundliche, weisse Kolonien, welche sehr rasch wachsen und sehr bald zur Verflüssigung der Gelatine führen. Unter dem Mikroskop hat man ganz das Bild einer Schimmelkolonie, wie etwa eine junge Kultur von Penicillium glaucum.

Im Centrum befindet sich eine dichtere, wolkige Bakterienmasse, welche durch die hier bereits eingetretene Verflüssigung jede Struktur verloren hat. Von diesem Zentrum gehen nun zahlreiche, sehr feine, radiale Strahlen aus, welche wie die Haare eines Pinsels in die Gelatine hineinragen. Die Kolonie ist annährend kreisrund, jedoch

bei der eigentümlichen Beschaffenheit des Randes nicht scharf gegen die Gelatine abgegrenzt.

In Agar entwickeln sich die Kolonieen etwa 1 cm unter der Oberfläche, als eine wolkige, überaus stark gebuchtete, nach unten bedeutend an Ausdehnung zunehmende Masse.

In hoher Traubenzuckergelatine bildet sich eine rasch verflüssigende, weisslich trübe, wolkig geballte Kolonie dem Stichkanal entlang aus, welche keine besonderen charakteristischen Eigenschaften zeigt.

Schluss.

Die 7 im Vorstehenden beschriebenen anaeroben Bakterienarten gehören mit Ausnahme eines einzigen, des Bacillus reniformis, den stäbchenförmigen Arten mit über den ganzen Körper verteilten Geisseln an. Von den bisher beschriebenen Arten ist Beweglichkeit nicht erwähnt bei Bacillus pseudo-oedematis maligni, bei den Bacillen der Buttersäuregärung Nr. I. und Nr. II. von Gruber und bei dem Bacillus liquefaciens parvus. Der letztere unterscheidet sich von Bacillus reniformis dadurch, dass er keine Sporen bildet, der Bacillus pseudo-oedematis maligni dadurch, dass er die Gelatine verflüssigt. Die beiden Gruber'schen Bacillen der Buttersäuregärung durch die Form und das Aussehen der Plattenkulturen. Die sämtlichen von mir beschriebenen Arten bilden Sporen, welche bei Bacillus solidus, Lüderitz und bei Bacillus I. Sanfelice nicht beobachtet wurden. Auch verflüssigen mit Ausnahme von Bacillus reniformis, der bereits charakterisiert wurde, sämtliche Arten die Gelatine, was unter den bisher beschriebenen Arten nicht der Fall ist bei Bacillus polypiformis, Bacillus muscoides, Bacillus II. Sanfelice, Bacillus III. Sanfelice, Bacillus Clostridium solidum Sanfelice, so dass eine Verwechslung mit diesen Arten ausgeschlossen bleibt. Es bleiben jedoch noch eine ganze Anzahl Arten übrig, welche sich nicht ohne Weiteres von den von mir gefundenen unterscheiden lassen, da ihre Beschreibung meist eine sehr unvollkommene ist. Teilweise können zur Unterscheidung wohl die den verschiedenen Arbeiten beigegebenen Abbildungen dienen, meist wird aber nur eine sehr genaue Vergleichung der Beschreibungen dazu führen und auch dann werden noch einzelne Zweifel bestehen bleiben. Da die verschiedenen Arten nicht von einheitlichen Gesichtspunkten aus beschrieben worden sind, und der eine Autor diese, der andere jene Eigenschaften gar nicht berücksichtigt, ist es schwer, eine kurze vergleichende Uebersicht über die

anaeroben Arten zu geben. Nichtsdestoweniger glaube ich doch, dass eine solche Zusammenstellung wünschenswert ist, auch wenn dieselbe bei dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse manche Mängel aufweisen muss. Ich habe deshalb diejenigen anaeroben Arten, von denen sich brauchbare Beschreibungen finden in nachfolgender Tabelle kurz mit ihren wichtigsten Merkmalen nach Beweglichkeit und Sporenbildung zusammengestellt, wobei jedoch ausdrücklich zu bemerken ist, dass möglicherweise bei genauer Untersuchung dieser Arten manche zusammengezogen werden müssen und bei andern Begeisselung und Sporenbildung noch entdeckt werden kann.

Uebersicht

über die bisher beschriebenen anaeroben Bakterien.

I. Beweglichkeit beobachtet.

A. Sporenbildung bekannt.

1. Bacillus oedematis maligni, Liborius.

Erscheint auf der Agarplatte als eine vielfach verzweigte und verästelte Masse, deren einzelne Ausläufer indess doch zu einigermassen kompakten Strängen zusammengelagert sind.

Die Gelatine wird verflüssigt. Gasentwicklung nicht vorhanden.

2. Bacillus Clostridium foetidum, Liborius.

Sporen liegen meist in der Mitte, zuweilen auch am Ende.

Die Agarplattenkultur stellt kleine gelblich weisse mit kurzen Ausläufern versehene, unregelmässige Häufchen von verschiedener Grösse dar.

Die Gelatine wird verflüssigt.

3. Bacillus polypiformis, Liborius.

Spore als ovaler oder oft cylindrischer langgestreckter, glänzender Körper auftretend, der oft die grössere Hälfte bis zu $^2/_3$ des Bacillus einnimmt.

Auf Platten wächst er nicht. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

4. Bacillus muscoides, Liborius.

Sporen meist endständig, rundlich oval.

Plattenkultur gelingt nicht. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

5. Bacillus liquefaciens magnus, Lüderitz.

Spore oval, liegt in der Mitte oder mehr dem einen Ende zu. Freie Spore 0,8 μ breit und 1,0—2,0 μ lang.

Auf der Platte erscheinen kleine Pünktchen oder Strichelchen, oder auch bis sandkorngrosse graue Bläschen.

Gelatine wird verflüssigt

6. Bacillus radiatus, Lüderitz.

Spore liegt in der Mitte oder mehr dem einen Ende genähert, 0,8—0,9 μ dick und 1,2—2,0 μ lang.

Auf der Platte dichteres Zentrum und reichliche oder leicht gebogene feine Ausläufer.

Die Gelatine wird energisch verflüssigt.

7. Bacillus spinosus, Lüderitz.

Spore liegt nahe dem einen Ende zu, 1,0—1,2 μ im Durchmesser.

Auf der Platte runde mit trüber Flüssigkeit gefüllte und in der Mitte einen grobstrahligen weisslichen Ballen enthaltende Kolonieen, deren Rand fein radiär gefasert erscheint.

Gelatine wird langsam verflüssigt.

8. Bacillus des Rauschbrandes, Kitasato.

Spore oval und endständig in Trommelschlägerform, doch finden sich auch einzeln solche, die entweder in der Mitte liegen, oder doch einem Ende nur etwas genähert.

Auf der Platte bilden sich unregelmässige Kugeln mit leicht warziger Oberfläche.

Im nächsten Stadium verflüssigen sie die Gelatine und es wachsen Fäden strahlenförmig in dieselbe hinein, so dass bei durchfallendem Licht ein dunkles Zentrum mit unregelmässiger strahlenkranzartiger Oberfläche erscheint.

Die Gelatine wird langsam verflüssigt.

9. Bacillus des Tetanus, Kitasato.

Die Spore sitzt köpfchenförmig auf dem Bacillus auf.

Auf der Platte haben die Kolonieen mit denen des Heubacillus Aehnlichkeit.

Ein massiges, dichtes Zentrum von einem feinen, nach allen Seiten gleichmässig entwickelten Strahlenkranz umgeben.

Gelatine wird sehr langsam verflüssigt.

10. Bacillus butyricus, Botkin.

Sporen gewöhnlich in der Mitte, manchmal dem Ende etwas mehr genähert. Sie besitzen eine Breite von 0,1 μ und eine Länge von 2,0—3,0 μ.

Gelatine wird rasch verflüssigt.

11. Bacillus rubellus, Ogata.

Sporen oval, entstehen meistens am Ende, zuweilen in der Mitte.

Auf der Platte mattweisse Pünktchen, die bei schwacher Vergrösserung, Kolonieen von länglich ovaler Form darstellen, welche feine Ausläufer in die Gelatine entsenden.

Der Nährboden wird allmählich in eine rötliche Flüssigkeit verwandelt.

12. Bacillus II., Sanfelice.

Sporen endständig.

Auf der Platte kleine weisse Pünktchen, die unter dem Mikroskop als runde, an der Peripherie hell citronengelbe, feinkörnige Kolonieen mit nicht ganz deutlichen Umrissen, dunklem Zentrum und ziemlich kurzen Fortsätzen erscheinen.

Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

13. Bacillus III., Sanfelice.

Sporen meist endständig.

Auf der Platte erscheinen die Kolonien als kleine weisse Punkte, die unter dem Mikroskop runde Scheiben mit scharfen Grenzen und leicht körnigem goldgelbem Inhalt darstellen.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

14. Bacillus Clostridium solidum, Sanfelice.

Sporen sehr gross und clostridiumförmig.

Auf der Platte kleine weissliche Punkte. Unter dem Mikroskop erinnern die Kolonieen an die von Proteus mirabilis.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

15. Bacillus V., Sanfelice.

Sporen treten mittel- oder endständig auf.

Auf der Platte runde, feinkörnige, mit deutlichen Rändern versehene Kolonieen.

Gelatine wird verflüssigt.

16. Bacillus VI., Sanfelice.

Sporen endständig.

Auf der Platte anfangs Aehnlichkeit mit Proteus mirabilis. Später sieht man in dem Zentrum der Kolonieen eine Anhäufung von Bakterieen, gegen die Peripherie zu in verschiedene Richtungen verlaufende Fäden und zwischen der Peripherie und dem Zentrum viele bewegliche Bacillen.

Gelatine wird verflüssigt.

17. Bacillus VII., Sanfelice.

Sporen endständig.

Auf der Platte ähnlich dem Proteus mirabilis. Im Zentrum sieht man eine dunkle Masse von mehr oder weniger regulärer Form und nach der Peripherie zu lange Fortsätze bildend.

Gelatine wird verflüssigt. Aehnelt sehr dem Pseudoœdembacillus und dem Bacillus radiatus.

18. Bacillus VIII., Sanfelice.

Sporen endständig.

Auf der Platte sind die Kolonien rund von gelbbräunlicher Farbe, körnig, haben einen hellen Hof und kurze ausstrahlende Fäden.

Gelatine wird verflüssigt. Besitzt viele Eigenschaften des Bacillus spinosus.

19. Bacillus IX., Sanfelice.

Sporen sind rund und endständig.

Auf der Platte eine auf das Zentrum beschränkte Trübung, gleich dem Tetanus, mit dem er auch sonst grosse Aehnlichkeit zeigt.

20. Bacillus cincinnatus, nova species.

Spore vollständig terminal, elipsoidisch, 1,5 μ breit, 2,0 μ lang. Auf der Platte hat die Kolonie das Aussehen eines Lockenkopfes.

Gelatine wird verflüssigt.

21. Bacillus diffrangens, nova species.

Spore endständig in sogenannter Trommelschlägerform, völlig rund, Durchmesser 1, 35 μ.

Plattenkultur wenig charakteristisch. Rundliche, nahezu undurchsichtige Scheiben mit völlig glattem scharfem Rande. Kolonieen wachsen auch auf der Platte nur im Innern der Gelatine.

Gelatine wird verflüssigt unter starker Gasentwickelung.

22. Bacillus granulosus, nova species.

Spore bildet köpfchenförmige Anschwellung. 1,36 μ Durchmesser, völlig rund.

Auf der Platte sehr kleine, gelbliche Scheiben von rundlicher Gestalt, deutlich granuliert mit glattem, scharfem, nicht gekörntem Rande.

Kolonieen wachsen auch auf der Platte nur im Innern der Gelatine.

Gelatine wird verflüssigt.

23. Bacillus funicularis nova species.

Sporen vollständig polar; kugelrund, 0,9 μ im Durchmesser, ähnlich den Tetanussporen.

Auf der Platte eine Anzahl deutlich von einander getrennter eigentümlich gebildete Stränge.

Gelatine wird verflüssigt.

24. Bacillus fibrosus nova species.

Sporen liegen mehr der Mitte zu, sind oval.

Auf der Platte: Von einem dichteren Zentrum geht ein Gewirr von Fäden, die sich ungemein fein verteilen, nach allen Richtungen hin aus.

Gelatine wird verflüssigt.

25. Bacillus penicillatus nova species.

Sporen nahezu terminal, oval, 1,2 μ lang und 0,9 μ breit.

Auf der Platte ähnelt die Kolonie der des Penicillium glaucum. Im Zentrum dichte wollkige Bakterienkolonie, von der aus zahlreiche, sehr feine radiale Strahlen gehen, ähnlich den Haaren eines Pinsels. Kolonie annähernd kreisrund.

Gelatine wird verflüssigt.

B. Sporenbildung nicht beobachtet.

26. Bacillus solidus, Lüderitz.

Plattenkultur nicht beschrieben.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

27. Bacillus I., Sanfelice.

Auf der Platte runde, gelbe, feinkörnige und oft von Fäden umgebene Kolonieen.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

II. Beweglichkeit nicht beobachtet.

A. Sporenbildend.

28. Bacillus pseudo-oedematis maligni, Liborius.

Meist 2 Sporen in einem Bacillus vorhanden.

Gelatine wird verflüssigt.

29. Bacillus der Buttersäuregärung Nr. I., Gruber.

Spore nicht vollständig endständig, 1,0—1,2 μ breit und bis 3,0 μ lang. Im freien Zustande besitzen sie intensiven Glanz.

Die Kolonie auf der Platte hat Zitronenform und ist innen dunkel gefärbt.

30. Bacillus der Buttersäuregärung Nr. II., Gruber.

Spore stets endständig, 0,8—1,0 μ breit, höchsens 1,5 μ lang.

Kolonie auf der Platte fast kugelrund, schwach gelblich, später rundhöckerig, gelbbraun und grob granuliert.

31. Bacillus reniformis, nova species.

Sporen ausgesprochen polar, 0,7 μ breit und 0,9 μ lang.

Auf der Platte hat die Kolonie deutlich ausgesprochene nierenförmige Gestalt.

Gelatine wird nicht verflüssigt.

B. Sporen nicht beobachtet.

32. Bacillus liquefaciens parvus, Lüderitz.

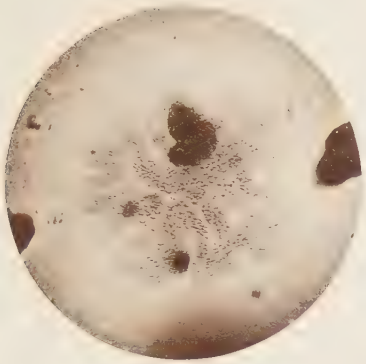
Auf der Platte graugelbliche, runde Klümpchen, die bei schwacher Vergrösserung eine unebene, höckerige Begrenzung und eine schmale Zone klarer Verflüssigung zeigen.

Gelatine wird verflüssigt.

Vorliegende Arbeit wurde auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Professor Dr. W. Migula im bakteriologischen Institut der Technischen Hochschule zu Karlsruhe ausgeführt.

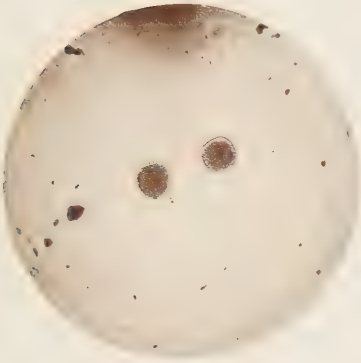
Es ist mir eine willkommene Pflicht, diesem meinem hochverehrten Lehrer auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen für die freundliche Unterstützung und die wertvollen Ratschläge, die er mir während meiner Arbeit in reichem Masse zu Teil werden liess.

Gleichfalls besten Dank Herrn Professor Dr. L. Klein für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat.



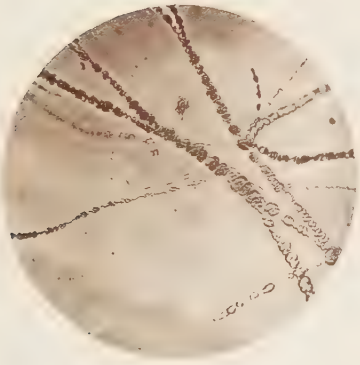
1.

2.



3

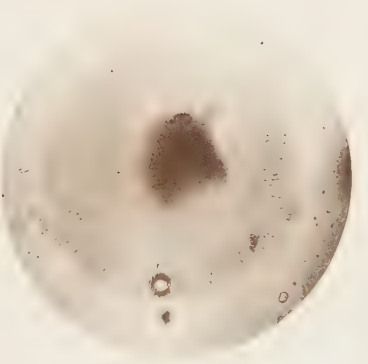
4.



5.

6.

7.



8.

Verlag von **Otto Nemnich**, Karlsruhe.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.

9.

10.

11.

12.

13.

14.

15.

Verlag von **Otto Nemnich**, Karlsruhe.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel III.

Figur 1. Bacillus cincinnatus, Plattenkultur, vergr. 40fach.
Figur 2. Bacillus diffrangens, Plattenkultur, vergr. 40fach.
Figur 3. Bacillus granulosus, Plattenkultur, vergr. 40fach.
Figur 4. Bacillus reniformis, Plattenkultur, vergr. 40fach.
Figur 5. Bacillus funicularis, Plattenkultur, vergr. 40fach.
Figur 6. Bacillus funicularis, Plattenkultur, vergr. 80fach.
Figur 7. Bacillus fibrosus, Plattenkultur, vergr. 40fach.
Figur 8. Bacillus penicillatus, Plattenkultur, vergr. 40fach.

Tafel IV.

Figur 9. Bacillus cincinnatus, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 4 Tage alt.
Figur 10. Bacillus diffrangens, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 4 Tage alt.
Figur 11. Bacillus granulosus, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 4 Tage alt.
Figur 12. Bacillus reniformis, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 4 Tage alt.
Figur 13. Bacillus funicularis, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 2 Tage alt.
Figur 14. Bacillus funicularis, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 4 Tage alt.
Figur 15. Bacillus penicillatus, Stichkultur in hoher Traubenzuckergelatine, 4 Tage alt.

Anmerkung:

Von einer Wiedergabe der Bakterien selbst wurde deshalb Abstand genommen, weil die Zellen durchaus nichts Charakteristisches bieten und eine Wiedergabe der einzelnen Stadien der Entwickelung eine allzu grosse Zahl von Abbildungen erfordert hätte. Die verschiedenen Kolonieen jedoch sind vorläufig am besten geeignet, zur raschen Bestimmung der Arten beizutragen. Die Stichkultur von Bacillus fibrosus wurde nicht reproduziert, weil dieselbe derjenigen des Bacillus penicillatus fast vollkommen gleicht.